

IV117: Úvod do systémové biologie

David Šafránek

10.12.2008

Obsah

Model nutričního stresu E. coli

Validace modelu

Evoluční selekce optimálních mechanismů

Obsah

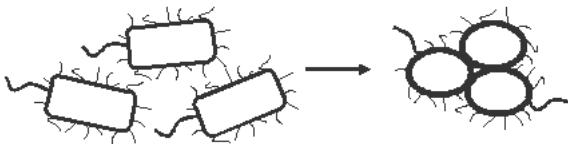
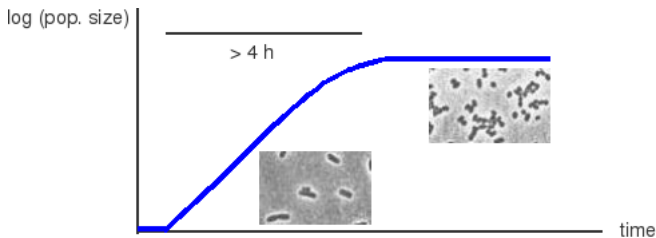
Model nutričního stresu E. coli

Validace modelu

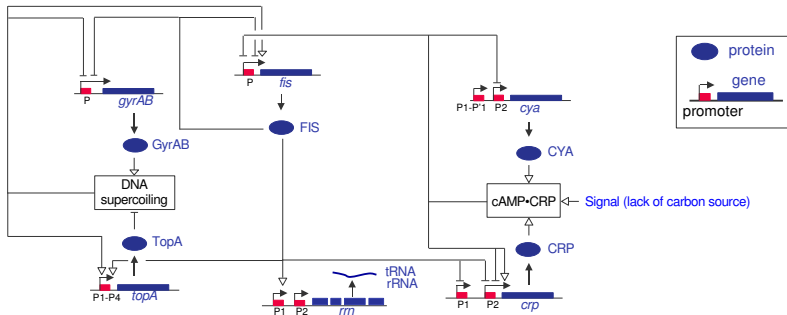
Evoluční selekce optimálních mechanismů

Chování kolonie *E. coli* při nutričním stresu

- při nedostatku klíčových prvků (např. uhlíku) omezuje *E. coli* dělení
 - ⇒ přepnutí režimu vývoje
 - za příhodných podmínek **exponenciální fáze** růstu populace
 - při stresu přechod k **stacionární fázi** růstu populace

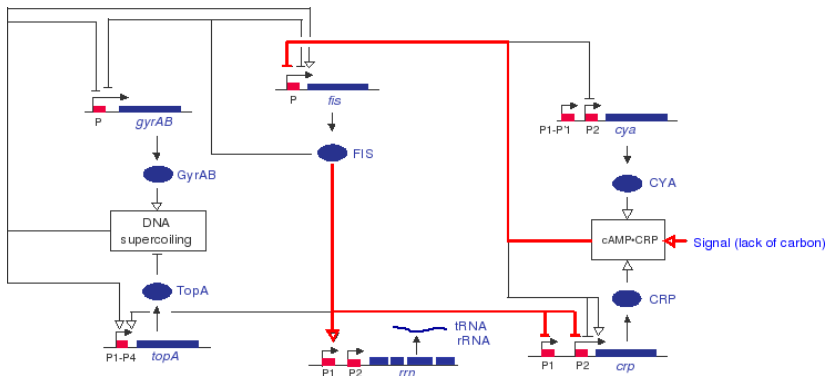


Výřez transkripční sítě *E. coli* (citlivý na stres)



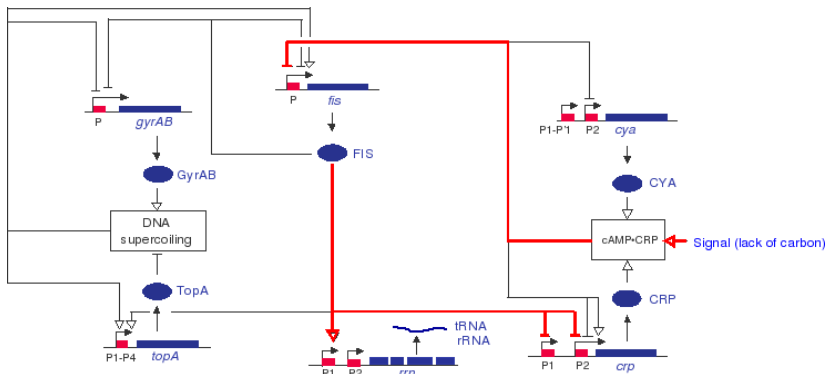
D. Ropers, H. de Jong, M. Page, D. Schneider, J. Geiselman, "Qualitative simulation of the carbon starvation response in *Escherichia coli*.", *BioSystems*, 84(2):124-152. (2006)

Reakce transkripční sítě *E. coli* na nutriční stres



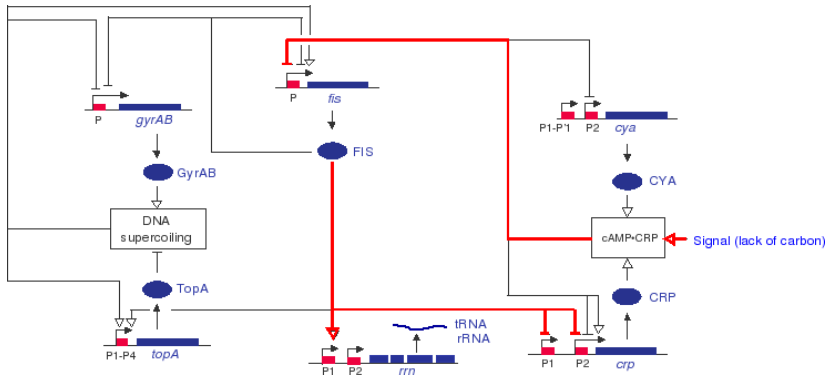
- nedostatek uhlíku signalizován zvýšením koncentrace cAMP
- komplex cAMP-CRP působí jako represor proteinu FIS (součástí pozitivní zpětné vazby)

Reakce transkripční sítě *E. coli* na nutriční stres



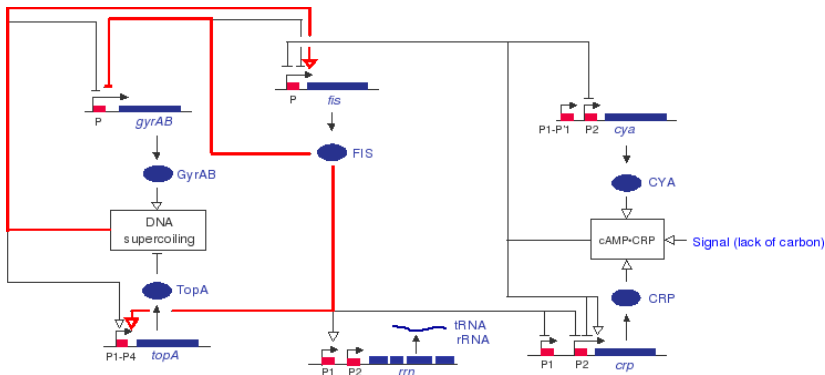
- FIS je klíčový protein
 - aktivuje transkripci RNA
 - nepřímě snižuje negativní supercoiling DNA (kompresi)

Reakce transkripční sítě *E. coli* na nutriční stres



- přítomnost signálu cAMP má za následek snížení syntézy RNA
- dochází tedy k omezení aktivity buněčného dělení

Reakce transkripční sítě *E. coli* (zlepšení podmínek)



- vypnutí signálu cAMP má za následek zvýšení syntézy FIS
 - dochází k aktivaci produkce RNA
 - dochází k utilizaci komprese DNA

Model nutričního stresu E. coli

- známá data:
 - proteiny a jejich transkripční regulace
 - zde fis, cya, crp, top, gyr
 - signální dráhy
 - zde cAMP

Model nutričního stresu E. coli

- známá data:
 - proteiny a jejich transkripční regulace
 - zde fis, cya, crp, top, gyr
 - signální dráhy
 - zde cAMP
- neznámá data:
 - hodnoty produkčních a degradačních konstant
 - nelze tedy přímo modelovat dynamiku pomocí dif. rovnic

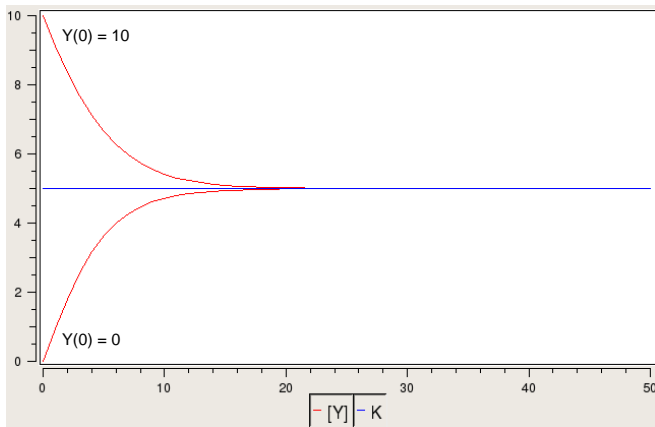
Model nutričního stresu E. coli

- známá data:
 - proteiny a jejich transkripční regulace
 - zde fis, cya, crp, top, gyr
 - signální dráhy
 - zde cAMP
- neznámá data:
 - hodnoty produkčních a degradačních konstant
 - nelze tedy přímo modelovat dynamiku pomocí dif. rovnic
- **jak modelovat transkripční dynamiku nutričního stresu?**

Model nutričního stresu E. coli

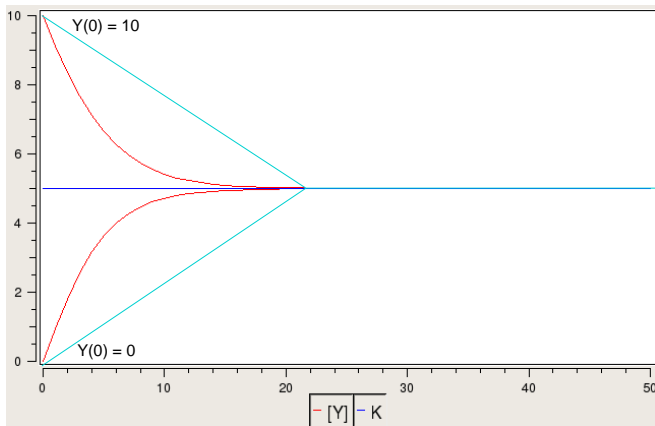
- známá data:
 - proteiny a jejich transkripční regulace
 - zde fis, cya, crp, top, gyr
 - signální dráhy
 - zde cAMP
- neznámá data:
 - hodnoty produkčních a degradačních konstant
 - nelze tedy přímo modelovat dynamiku pomocí dif. rovnic
- jak modelovat transkripční dynamiku nutričního stresu?
- pomocí kvalitativního modelu
 - abstrakce od kvantitativních údajů (hodnoty konstant)

Aproximace pomocí schodových funkcí



$$\frac{dY}{dt} = \beta \frac{1}{1 + \left(\frac{Y}{K}\right)^n} - \gamma Y \quad \beta = 1, \gamma = 0.1$$

Aproximace pomocí schodových funkcí

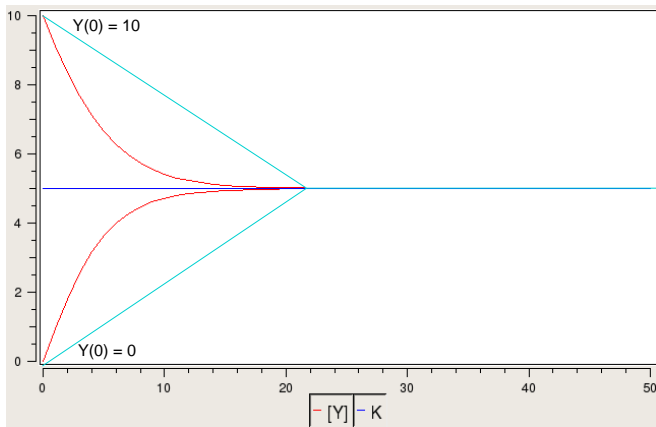


$$\frac{dY}{dt} = \beta s^{-}(Y, K) - \gamma Y \quad \beta = 1, \gamma = 0.1$$

Aproximace pomocí schodových funkcí

$$\frac{dY}{dt} = -0.1Y$$

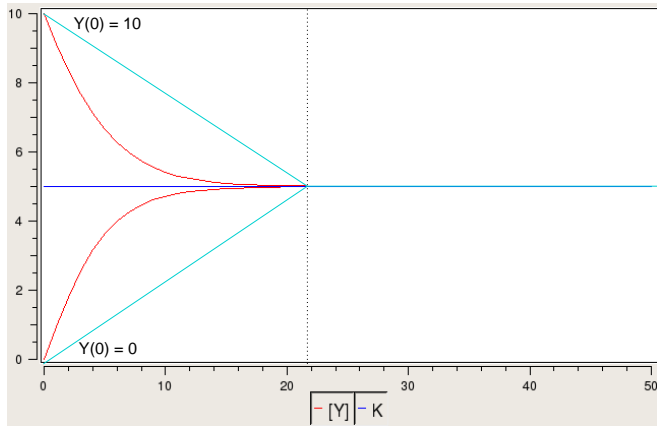
$$\frac{dY}{dt} = 1 - 0.1Y$$



Aproximace pomocí schodových funkcí

$$\frac{dY}{dt} = -0.1Y$$

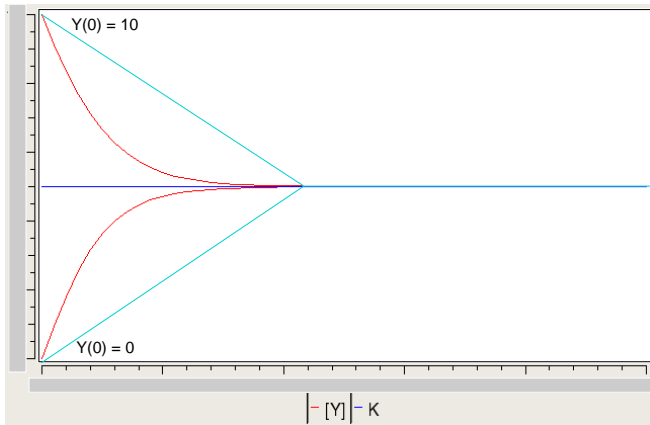
$$\frac{dY}{dt} = 1 - 0.1Y$$



Aproximace pomocí schodových funkcí

$$\frac{dY}{dt} = -\gamma Y$$

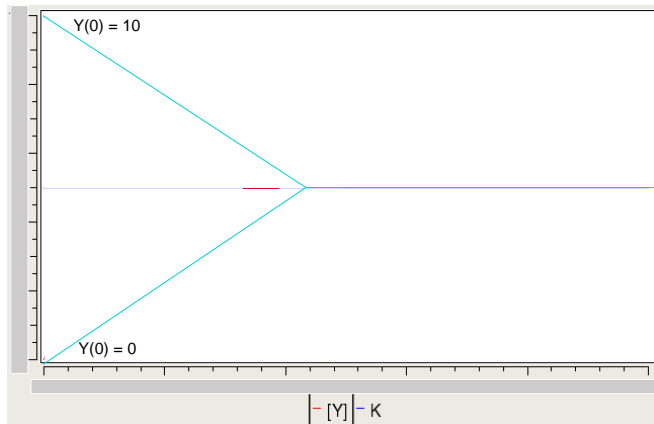
$$\frac{dY}{dt} = \beta - \gamma Y$$



Aproximace pomocí schodových funkcí

$$\frac{dY}{dt} = -\gamma Y$$

$$\frac{dY}{dt} = \beta - \gamma Y$$

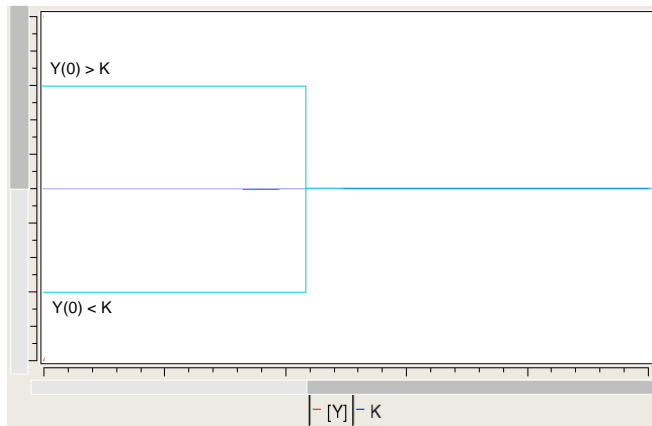


kvalitativní chování zůstává stejné pro libovolné β, γ , t.ž. $\frac{\beta}{\gamma} \geq K$

Aproximace pomocí schodových funkcí

$$\frac{dY}{dt} = -\gamma Y$$

$$\frac{dY}{dt} = \beta - \gamma Y$$



kvalitativní chování zůstává stejné pro libovolné β, γ , t.ž. $\frac{\beta}{\gamma} \geq K$

Aproximace pomocí schodových funkcí

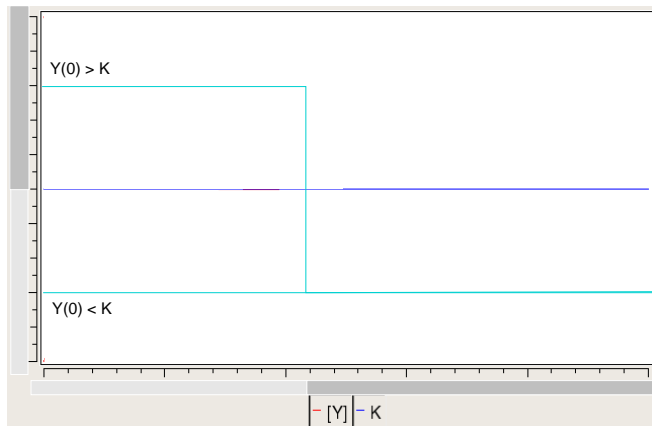
jak se chování změní, bude-li $\frac{\beta}{\gamma} < K$?

Aproximace pomocí schodových funkcí

jak se chování změní, bude-li $\frac{\beta}{\gamma} < K$?

$$\frac{dY}{dt} = -\gamma Y$$

$$\frac{dY}{dt} = \beta - \gamma Y$$

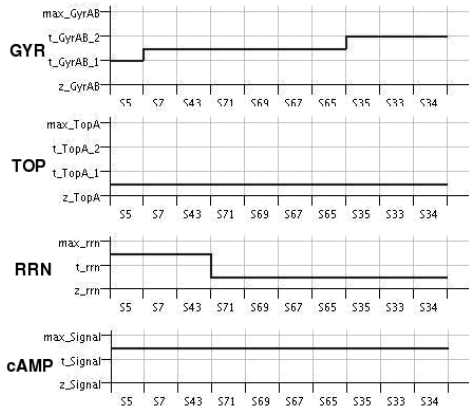
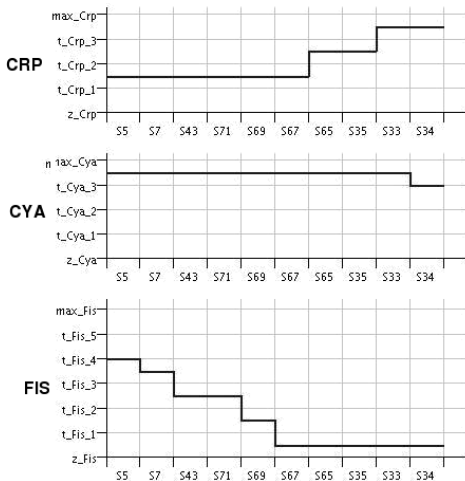


kvalitativní chování zůstává stejné pro libovolné β, γ , t.ž. $\frac{\beta}{\gamma} < K$

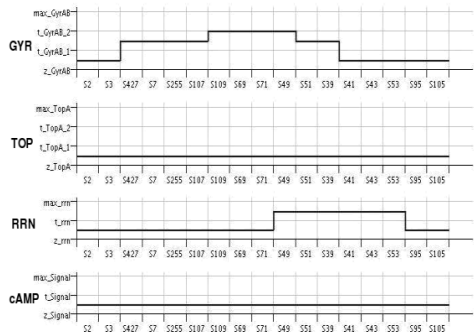
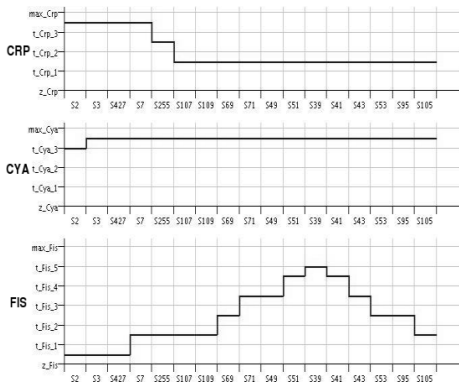
Kvalitativní modelování a simulace

- nástroj Genetic Network Analyzer (GNA.sim)
<http://www.genostar.com/en/genostar-software/gnasim.html>
- umožňuje diskrétní simulaci
- využití aproximace pomocí schodových funkcí
 - prostor řešení lze diskretizovat na konečný počet oblastí, v nichž chování degraduje v lineární rovnice
 - místo exaktní hodnoty koncentrace rozlišujeme několik diskrétních úrovní
 - úrovně určeny pozicemi prahových hodnot
 - různá chování pro různé uspořádání prahových hodnot schodových funkcí

Model nutričního stresu *E. coli* (zhoršení podmínek)



Model nutričního stresu *E. coli* (zlepšení podmínek)



Další metody pro modelování a simulaci buňky

- stochastické modely (diskrétní i spojité)
 - Gillespiho metoda Monte carlo simulace
 - D. T. Gillespie. "Exact Stochastic Simulation of Coupled Chemical Reactions". The Journal of Physical Chemistry 81 (25): 2340-2361. (1977)
 - implementováno např. v COPASI
 - modeluje se individuální chování molekul (proměnné měřeny počtem molekul)

Další metody pro modelování a simulaci buňky

- stochastické modely (diskrétní i spojité)
 - Gillespiho metoda Monte carlo simulace

D. T. Gillespie. "Exact Stochastic Simulation of Coupled Chemical Reactions". The Journal of Physical Chemistry 81 (25): 2340-2361. (1977)
 - implementováno např. v COPASI
 - modeluje se individuální chování molekul (proměnné měřeny počtem molekul)
- Petriho síť
 - spojité i diskrétní (kvalitativní) simulace
 - deterministické i stochastické modely
 - existuje řada variant a nástrojů
 - <http://www.informatik.uni-hamburg.de/TGI/PetriNets/tools/>

Další metody pro modelování a simulaci buňky

- stochastické modely (diskrétní i spojité)
 - Gillespiho metoda Monte carlo simulace

D. T. Gillespie. "Exact Stochastic Simulation of Coupled Chemical Reactions". The Journal of Physical Chemistry 81 (25): 2340-2361. (1977)
 - implementováno např. v COPASI
 - modeluje se individuální chování molekul (proměnné měřeny počtem molekul)
- Petriho síť
 - spojité i diskrétní (kvalitativní) simulace
 - deterministické i stochastické modely
 - existuje řada variant a nástrojů
 - <http://www.informatik.uni-hamburg.de/TGI/PetriNets/tools/>
- procesové kalkuly (BioPEPA, BioSPi, ...)

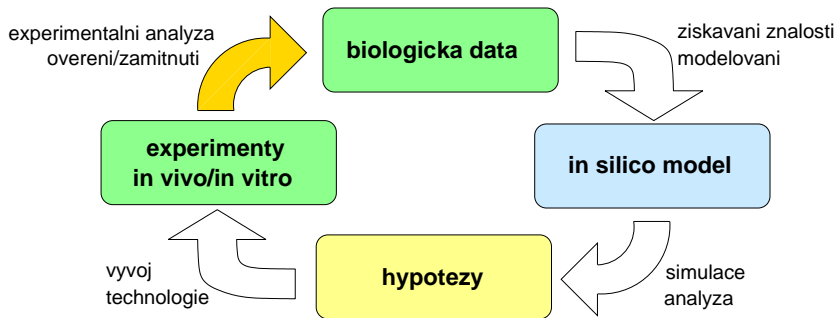
Obsah

Model nutričního stresu E. coli

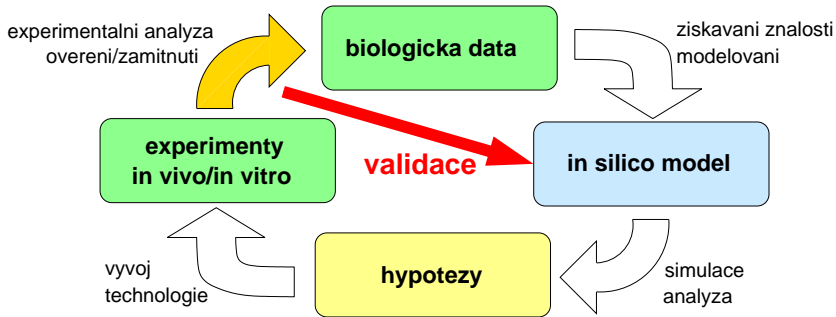
Validace modelu

Evoluční selekce optimálních mechanismů

Průběh výzkumu v systémové biologii



Průběh výzkumu v systémové biologii

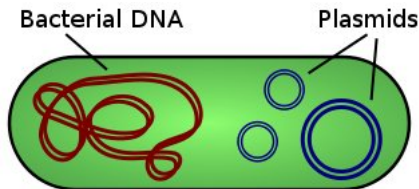


Pojem validace

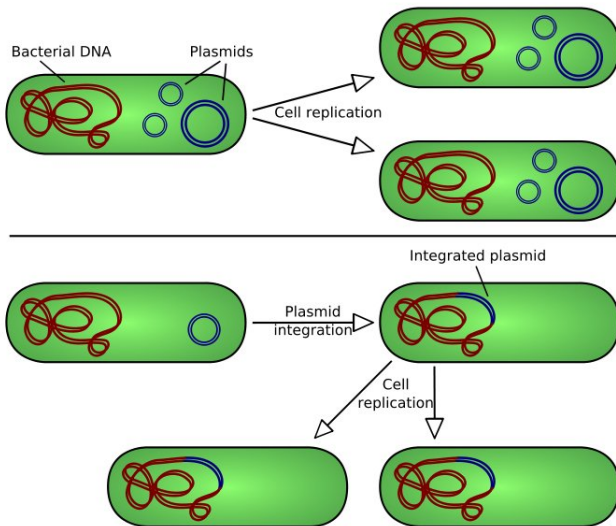
- potřeba ověřit, zda model odpovídá realitě
- postup:
 - vybereme vlastnost modelu (zjištěnou jeho analýzou)
 - provedeme odpovídající in vitro experiment
 - postup iterativně opakujeme pro různé vlastnosti

Prostředky validace

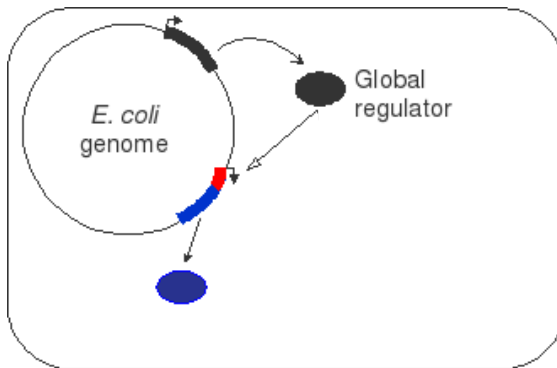
- nutno měřit vlastnosti živého organismu
 - použití high-throughput technologií
 - metoda **genového reporteru**
- genovým reporterem se rozumí umělá subsekvence DNA zavedená do buňky
 - formou umělého plasmidu (externí molekula DNA zavedená do buňky)
 - modifikací chromozomu (prostřednictvím plasmidu)



Zavedení umělé sekvence DNA do buňky

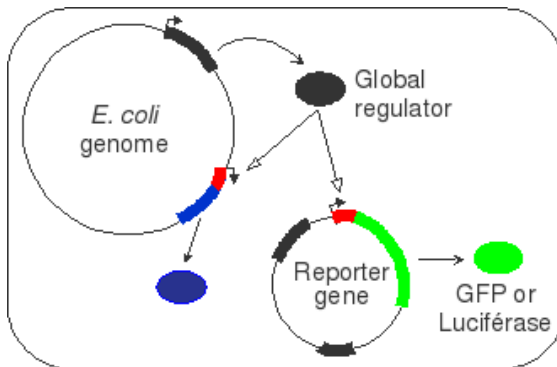


Genový reporter



- genový reporter převádí aktivitu na určitém promotoru na měřitelný jev (nejčastěji fluorescence)
- měření reportovaného jevu probíhá na populační úrovni

Genový reporter



- genový reporter převádí aktivitu na určitém promotoru na měřitelný jev (nejčastěji fluorescence)
- měření reportovaného jevu probíhá na populační úrovni

Problémy validace

- obtížná analýza naměřených dat
- role laboratorních podmínek
- souvislost reporteru a reportovaného proteinu
 - např. odlišná stabilita
- populační měření může být méně informativní než měření jednotlivých buněk
- konstrukce a provedení experimentu celkově velmi obtížné

Využití v syntetické biologii

- syntetická biologie — vývoj modifikovaných organismů
- formou plasmidu lze např. zavést nový funkční protein
- modifikace funkčnosti organismu
- výroba nového organismu...
 - <http://syntheticbiology.org/>
 - <http://web.rollins.edu/~tlairson/tech/synlife5.html>
 - <http://sb4.biobricks.org/>

Obsah

Model nutričního stresu E. coli

Validace modelu

Evoluční selekce optimálních mechanismů

Konvergence k optimálním mechanismům

- evoluce konverguje k mechanismům, které optimalizují vývoj (růst) v daném prostředí
- jedním z klíčů optimality je robustnost
- předmětem optimálního “vyladění” jsou regulační mechanismy
 - zejména regulace transkripce
 - regulace jen tehdy je-li výhodnější
 - preference optimálních motivů
 - udržení optimální stabilní koncentrace proteinů

Optimalizace vzhledem k prostředí

- přizpůsobení prostředí z dlouhodobého hlediska
- maximalizace zisku při co nejnižších ztrátách

Optimalizace vzhledem k prostředí

- přizpůsobení prostředí z dlouhodobého hlediska
- maximalizace zisku při co nejnižších ztrátách
 - **fitness funkce**
 - definována pro dané parametry organismu jako celkový rozdíl zisku a ztrát při sledovaném jevu

Optimalizace vzhledem k prostředí

- přizpůsobení prostředí z dlouhodobého hlediska
- maximalizace zisku při co nejnižších ztrátách
 - **fitness funkce**
 - definována pro dané parametry organismu jako celkový rozdíl zisku a ztrát při sledovaném jevu
- předmětem optimalizace je maximalizace hodnoty fitness funkce
 - hledají se takové hodnoty parametrů, pro které je hodnota fitness funkce maximální

Fitness funkce – příklad

- uvažujeme proměnné prostředí v němž se určitý jev vyskytuje s pravděpodobností p v daném okamžiku
 - považujeme za tento jev např. přítomnost glukózy
- jako optimalizovaný jev uvažujeme rychlost růstu buněk
- uvažujeme následující typy organismů:

Fitness funkce – příklad

- uvažujeme proměnné prostředí v němž se určitý jev vyskytuje s pravděpodobností p v daném okamžiku
 - považujeme za tento jev např. přítomnost glukózy
- jako optimalizovaný jev uvažujeme rychlost růstu buněk
- uvažujeme následující typy organismů:
 - σ_1 obsahuje protein X využívající glukózu, transkripce X není regulována

Fitness funkce – příklad

- uvažujeme proměnné prostředí v němž se určitý jev vyskytuje s pravděpodobností p v daném okamžiku
 - považujeme za tento jev např. přítomnost glukózy
- jako optimalizovaný jev uvažujeme rychlost růstu buněk
- uvažujeme následující typy organismů:
 - α_1 obsahuje protein X využívající glukózu, transkripce X není regulována
 - α_2 protein X transkripčně regulován

Fitness funkce – příklad

- uvažujeme proměnné prostředí v němž se určitý jev vyskytuje s pravděpodobností p v daném okamžiku
 - považujeme za tento jev např. přítomnost glukózy
- jako optimalizovaný jev uvažujeme rychlost růstu buněk
- uvažujeme následující typy organismů:
 - \circ_1 obsahuje protein X využívající glukózu, transkripce X není regulována
 - \circ_2 protein X transkripčně regulován
 - \circ_3 protein X není přítomen v genomu (ani regulující proteiny)

Fitness funkce – příklad

- uvažujeme proměnné prostředí v němž se určitý jev vyskytuje s pravděpodobností p v daném okamžiku
 - považujeme za tento jev např. přítomnost glukózy
- jako optimalizovaný jev uvažujeme rychlost růstu buněk
- uvažujeme následující typy organismů:
 - o_1 obsahuje protein X využívající glukózu, transkripce X není regulována
 - o_2 protein X transkripčně regulován
 - o_3 protein X není přítomen v genomu (ani regulující proteiny)
- **kteřá z variant je nejoptimálnější a za jakých podmínek?**

Fitness funkce – příklad

- uvažujeme proměnné prostředí v němž se určitý jev vyskytuje s pravděpodobností p v daném okamžiku
 - považujeme za tento jev např. přítomnost glukózy
- jako optimalizovaný jev uvažujeme rychlost růstu buněk
- uvažujeme následující typy organismů:
 - o_1 obsahuje protein X využívající glukózu, transkripce X není regulována
 - o_2 protein X transkripčně regulován
 - o_3 protein X není přítomen v genomu (ani regulující proteiny)
- která z variant je nejoptimálnější a za jakých podmínek?
 - to regulate or not to regulate?

Fitness funkce – příklad

- fitness funkce pro σ_1 :

$$f_{\sigma_1} = pb - c$$

b ... zisk z příjmu glukózy, c ... ztráty způsobené syntézou X

Fitness funkce – příklad

- fitness funkce pro o_1 :

$$f_{o_1} = pb - c$$

b ... zisk z příjmu glukózy, c ... ztráty způsobené syntézou X

- fitness funkce pro o_2 :

$$f_{o_2} = pb - pc - r$$

r ... ztráty způsobené regulací X (např. syntéza regulujících proteinů)

Fitness funkce – příklad

- fitness funkce pro o_1 :

$$f_{o_1} = pb - c$$

b ... zisk z příjmu glukózy, c ... ztráty způsobené syntézou X

- fitness funkce pro o_2 :

$$f_{o_2} = pb - pc - r$$

r ... ztráty způsobené regulací X (např. syntéza regulujících proteinů)

- fitness funkce pro o_3 :

$$f_{o_3} = 0$$

Fitness funkce – příklad

- to regulate?

Fitness funkce – příklad

- to regulate?

$$f_{o_2} > f_{o_1} \wedge f_{o_2} > f_{o_3}$$

Fitness funkce – příklad

- to regulate?

$$f_{o_2} > f_{o_1} \wedge f_{o_2} > f_{o_3}$$

$$p < 1 - \frac{r}{c} \wedge p > \frac{r}{b - c}$$

Fitness funkce – příklad

- to regulate?

$$f_{o_2} > f_{o_1} \wedge f_{o_2} > f_{o_3}$$

$$p < 1 - \frac{r}{c} \wedge p > \frac{r}{b - c}$$

- not to regulate?

Fitness funkce – příklad

- to regulate?

$$f_{o_2} > f_{o_1} \wedge f_{o_2} > f_{o_3}$$

$$p < 1 - \frac{r}{c} \wedge p > \frac{r}{b - c}$$

- not to regulate?

$$f_{o_1} > f_{o_2} \wedge f_{o_1} > f_{o_3}$$

Fitness funkce – příklad

- to regulate?

$$f_{o_2} > f_{o_1} \wedge f_{o_2} > f_{o_3}$$

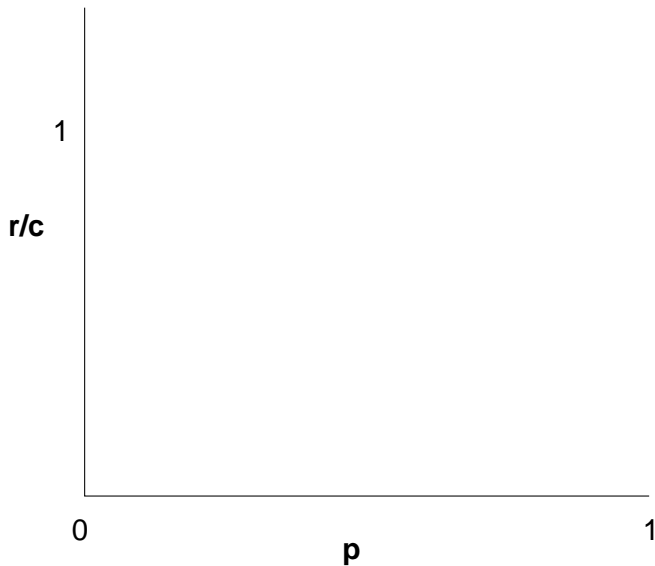
$$p < 1 - \frac{r}{c} \wedge p > \frac{r}{b-c}$$

- not to regulate?

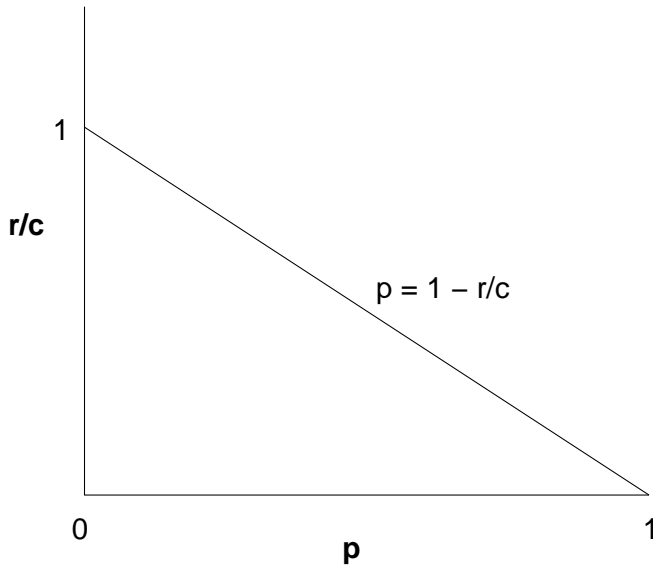
$$f_{o_1} > f_{o_2} \wedge f_{o_1} > f_{o_3}$$

$$p > 1 - \frac{r}{c} \wedge p > \frac{c}{b}$$

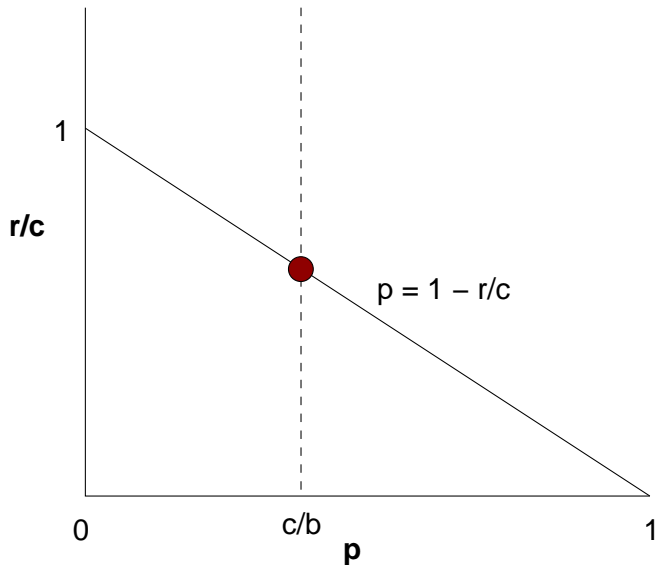
Fitness funkce – příklad



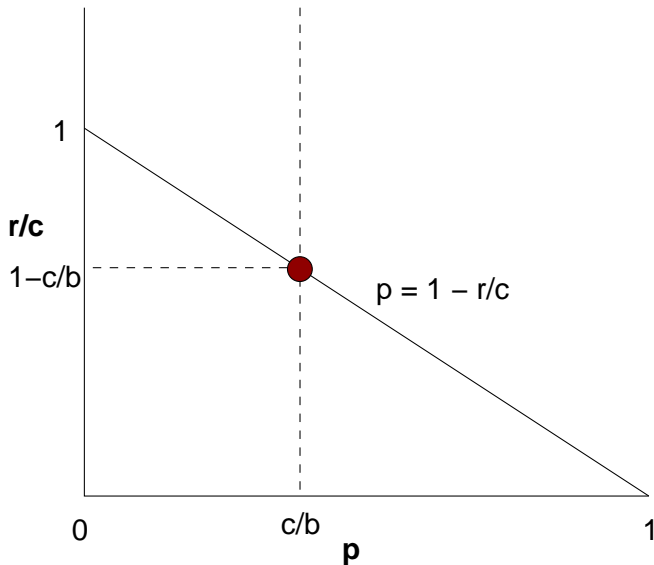
Fitness funkce – příklad



Fitness funkce – příklad



Fitness funkce – příklad



Fitness funkce – příklad

- v bodě $[\frac{c}{b}, 1 - \frac{c}{b}]$ platí:

$$\frac{r}{c} = 1 - \frac{c}{b}$$

Fitness funkce – příklad

- v bodě $[\frac{c}{b}, 1 - \frac{c}{b}]$ platí:

$$\frac{r}{c} = 1 - \frac{c}{b}$$

$$\Rightarrow \frac{r}{c} = \frac{b - c}{b}$$

Fitness funkce – příklad

- v bodě $[\frac{c}{b}, 1 - \frac{c}{b}]$ platí:

$$\frac{r}{c} = 1 - \frac{c}{b}$$

$$\Rightarrow \frac{r}{c} = \frac{b - c}{b}$$

$$\Rightarrow \frac{c}{b} = \frac{r}{b - c}$$

Fitness funkce – příklad

- v bodě $[\frac{c}{b}, 1 - \frac{c}{b}]$ platí:

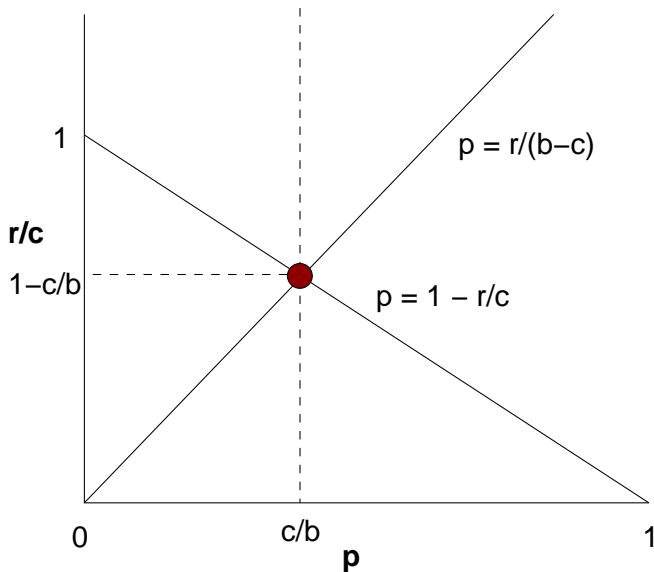
$$\frac{r}{c} = 1 - \frac{c}{b}$$

$$\Rightarrow \frac{r}{c} = \frac{b-c}{b}$$

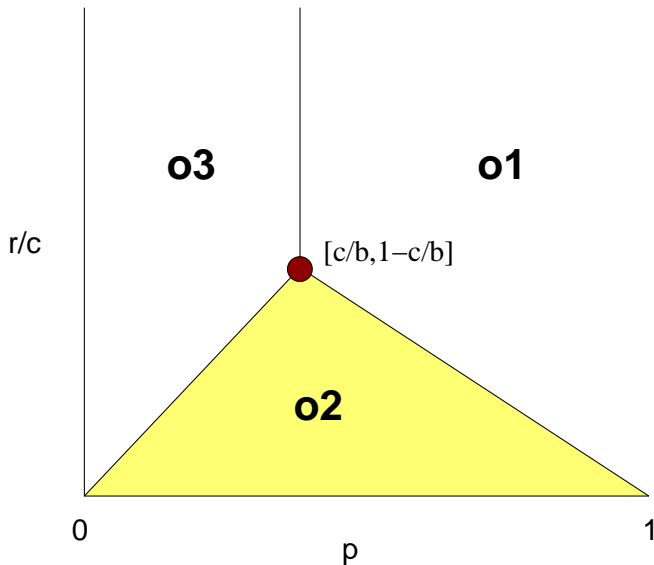
$$\Rightarrow \frac{c}{b} = \frac{r}{b-c}$$

$$\Rightarrow p = \frac{r}{b-c}$$

Fitness funkce – příklad



Fitness funkce – příklad



Optimalizace regulace – shrnutí

- v konstantních prostředích je pro každý protein buď $p = 0$ nebo $p = 1$
 - např. paraziti žijící v prostředí hostitelských organismů
 - v takových podmínkách nedochází k regulaci
- ve výrazně proměnných prostředích je naopak transkripční regulace většiny proteinů častým jevem
 - např. bakterie žijící v půdě (*Bacillus subtilis*, apod.)

Optimalizace developmentální selekcí – shrnutí

- fitness funkce je většinou funkcí závislou na prostředí
- fitness funkce sleduje růst populace
- další příklady fitness funkce zahrnují např. rozhodnutí pro C1-FFL motiv
 - sleduje se robustnost vůči krátkým pulzům vstupního signálu
 - C1-FFL se nasadí pouze pokud je výskyt takovýchto pulzů v prostředí častý
- organismus má zakódováno v genomu své optimální prostředí

Optimalizace developmentální selekcí – odkazy

- T. Kalisky, E. Dekel and U. Alon, Cost-benefit theory and optimal design of gene regulation functions *Phys. Biol.* 4 229-245, (2007).
- N. Kashtan, E. Noor and U. Alon, Varying environments can speed up evolution *PNAS*, 104: 13711-13716, (2007).
- N. Kashtan and U. Alon, From the Cover: Spontaneous evolution of modularity and network motifs *PNAS*, 102: 13773-13778 (2005).
- E. Dekel, S. Mangan and U. Alon, Environmental selection of the feed-forward loop circuit in gene-regulation networks *Physical biology*, 2, 2, 81-88, (2005).